

Л. В. Тарасенко, С. В. Варга, В. Н. Демченко, Е. В. Большова, Н. Д. Носенко, П. В. Сеницын, Л. В. Чайковская, А. Г. Резников

ВЛИЯНИЕ ИНКОРПОРАЦИИ ^{131}I НА СОСТОЯНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ САМЦОВ КРЫС ДОЗОЗАВИСИМОГО ЭФФЕКТА

Отдел эндокринологии репродукции и адаптации (зав.— член-корр. АН Украины А. Г. Резников) Украинского НИИ эндокринологии и обмена веществ (дир.— член-корр. АН Украины Н. Д. Тронько), Киев

В результате аварии на Чернобыльской АЭС значительная часть населения прилегающей к ней местности, в том числе детей и подростков, была подвергнута как внешнему облучению, так и воздействию инкорпорированных радионуклидов. В первые недели после аварии большинство из них составляли радиоактивные изотопы йода, которые, избирательно накапливаясь в ткани щитовидной железы, могли повлечь за собой ее поражение [3]. В свою очередь длительное нарушение функции щитовидной железы приводит к изменению половой активности и сперматогенеза [1, 2]. Кроме того, согласно данным Т. Мian и соавт. [11], ^{131}I способен накапливаться в семенниках и оказывать прямое повреждающее действие на сперматогенный эпителий. Интерстициальные клетки семенников считаются более радиорезистентными [7]. Подавляющее большинство приведенных в литературе данных относится к изучению влияния на репродуктивную систему внешнего облучения, либо инкорпорированных радионуклидов в больших дозах [6]. Воздействие на систему репродукции инкорпорированных нуклидов в малых дозах, что приближает условия эксперимента к реальным условиям проживания населения в прилегающих к АЭС районах, изучено недостаточно. В этой связи представляли интерес экспериментальные исследования состояния различных звеньев репродуктивной системы у самцов крыс, получавших в препубертатном периоде ^{131}I в различных дозах.

Материалы и методы

Опыты проведены на неполовозрелых самцах крыс породы Вистар, которым в возрасте 30 дней (масса тела 65–80 г) внутривенно был введен ^{131}I в виде натриевой соли в 0,5 мл физиологического раствора в дозах 9, 25, 37 и 92,5 кБк на животное. По достижении половой зрелости (3-месячный возраст) крыс декапитировали. В крови радиоиммунологическим методом определяли содержание тестостерона (Т; наборы фирмы «CIS International», Франция и ИБОХ АН Беларуси) и тироксина (наборы ИБОХ АН Беларуси), а также уровень биологически активного ЛГ — по концентрации Т, синтезированной клетками Лейдига семенников мышей в условиях инкубации с тестируемой плазмой [5, 8]. Содержание ЛГ выражали в единицах активности 1-го Международного стандарта 69/48 («Sigma», США). В гипоталамусе спектрофлуориметрическим методом определяли содержание норадреналина (НА) и дофамина (ДА) и активность ферментов метаболизма Т — 3-оксо-5 α -стероид: НАДФ $^{+}$ -4-ен-оксидоредуктазы (5 α -редуктазы) и эстрогенсинтазы (ароматазы) — при помощи хроматографического разделения в тонком слое силикагеля стероидов, образованных при инкубации надосадочной фракции 1000 г ткани гипоталамуса с [1,2,6,7- ^3H]-Т. В ткани семенников спектрофотометрическим методом определяли активность одного из ключевых ферментов в цепи биосинтеза Т — Δ^5 -3 β -гидроксистероиддегидрогеназы (СД) [4]. Кроме того, были проведены гравиметрические исследования добавочных половых желез (вентральной и передней

доли предстательной железы и семенных пузырьков), определено содержание ДНК [6] и количество клеток [9] в вентральной доле предстательной железы. Содержание белка определяли методом Лоури [10].

В связи с тем что эксперименты проводились в разное время, результаты, полученные для животных, которым ^{131}I был введен в дозе 92,5 кБк, сравнивались с таковыми отдельной контрольной группы (контроль-2). Статистическая обработка результатов, за исключением содержания Т в крови, проведена с использованием критерия t Стьюдента. При статистической обработке данных об уровне Т использован непараметрический критерий U Вилкоксона—Манна—Уитни. Помимо указанных выше исследований было изучено влияние ^{131}I на плодовитость подопытных самцов, для чего за 1 нед до умерщвления их, равно как и самцов контрольной группы, подсаживали к самкам. На 21-й день беременности самок декапитировали, подсчитывали количество плодов и определяли индекс плодовитости.

Результаты и их обсуждение

Инкорпорация ^{131}I самцам крыс в препубертатном возрасте в малой дозе (9,25 кБк) не приводила к существенным изменениям изученных показателей, тогда как большие дозы ^{131}I (37 и 92,5 кБк) вызывали некоторые нарушения в гормональном статусе. Так, спустя 2 мес после инъекции радионуклида содержание Т в крови увеличивалось по сравнению с соответствующим контролем (табл. 1). Содержание биологически активного ЛГ в крови достоверно снижалось на 20 % при введении ^{131}I в дозах 37 и 92,5 кБк. Инкреторная функция щитовидной железы во время исследования оставалась нормальной при инкорпорации ^{131}I в любой из изучаемых доз, что, однако, не исключает возможности ее повреждения в более раннем возрасте.

Содержание НА и ДА в гипоталамусе половозрелых самцов крыс не изменялось под воздействием введения ^{131}I в изученных дозах (табл. 2).

Изучение метаболизма Т в гипоталамусе самцов крыс показало, что под воздействием ^{131}I в

Таблица 1

Содержание гормонов в плазме крови половозрелых самцов крыс, подвергшихся воздействию ^{131}I в препубертатном периоде ($M \pm m$)

Условия эксперимента	n	Т, нмоль/л	Биологически активный ЛГ, МЕ/л	Тироксин, нмоль/л
Контроль-1 ^{131}I	8	5,7 $\pm$ 1,9	4,81 $\pm$ 0,20	45,5 $\pm$ 7,4
9,25 кБк	9	7,0 $\pm$ 1,8	—	42,7 $\pm$ 5,8
37 кБк	9	12,7 $\pm$ 4,1*	3,83 $\pm$ 0,33*	44,2 $\pm$ 5,9
Контроль-2	12	8,6 $\pm$ 0,7	6,07 $\pm$ 0,36	64,8 $\pm$ 4,3
^{131}I , 92,5 кБк	12	10,8 $\pm$ 0,7*	4,62 $\pm$ 0,45*	55,0 $\pm$ 3,7

Примечание. Здесь и в табл. 3 $p \leq 0,05$ для значений, отмеченных звездочкой.

Таблица 2

Содержание НА и ДА (в пмоль на 1 г ткани) в гипоталамусе половозрелых самцов крыс, подвергшихся воздействию ^{131}I в препубертатном периоде

Группа животных	НА	ДА
Контроль-1 ^{131}I	3,1±0,4 (5)	9,7±0,4 (5)
9,25 кБк	3,6±0,3 (5)	8,5±0,5 (5)
37 кБк	2,6±0,3 (5)	10,4±0,9 (5)
Контроль-2 ^{131}I	11,8±0,5 (4)	5,9±0,3 (5)
92,5 кБк	11,7±0,6 (5)	5,6±0,2 (5)

Примечание. В скобках указано число анализов.

дозах 37 и 92,5 кБк существенно интенсифицируется образование эстрадиола, в то время как процессы 5 α -восстановления не претерпевают заметных изменений (табл. 3). Увеличение активности ароматазы под воздействием ^{131}I в дозе 9,25 кБк ввиду большой вариабельности данных внутри группы (43,80—176,46 пмоль/ч на 1 г белка) оказалось недостоверным. По всей вероятности, наблюдаемое под влиянием ^{131}I в дозах 37 и 92,5 кБк перераспределение путей метаболизма Т в гипоталамусе в сторону усиления биосинтеза эстрогенов является следствием повышения содержания Т в крови. Причина же увеличения уровня Т в крови остается малоизвестной, поскольку активность СД, ключевого фермента биосинтеза Т по Δ^4 -пути, в семенниках крыс с инкорпорированным ^{131}I не нарушается. Возможно, под воздействием ^{131}I имеет место перераспределение путей биосинтеза мужских половых гормонов в семенниках, и, следовательно, изменение активности каких-либо других ферментов, участвующих в биосинтезе Т.

Поскольку добавочные половые железы являются интегральным показателем андрогенного статуса организма, было изучено их морфофункциональное состояние. Проведенные исследования не обнаружили изменений со стороны андрогензависимых органов: под воздействием ^{131}I в изученных дозах относительная масса вентральной и передней долей предстательной железы, а также семенных пузырьков не изменялась. Концентрация ДНК в вентральной доле предстательной железы при воздействии ^{131}I в дозе 92,4 кБк была несколько выше по сравнению с контролем (соответственно $3,41\pm 0,19$ мкг

на 1 мг ткани против $2,89\pm 0,12$ мкг на 1 мг ткани; $p<0,05$). Однако то, что содержание ДНК ($630,9\pm 36,8$ мкг/орган против $577,6\pm 60,5$ мкг/орган в контроле) и, особенно, количество клеток в этом органе практически не изменялась, свидетельствует о том, что изменение концентрации биополимера может быть обусловлено некоторым изменением содержания воды в железе. При введении ^{131}I в дозе 37 кБк концентрация и содержание ДНК, а также количество клеток в предстательной железе не отличались от нормы.

Инкорпорация ^{131}I не оказывала также существенного влияния на плодовитость подопытных самцов. Среднее количество плодов в помете практически не отличалось от нормы. Не было найдено и различий в индивидуальном развитии плодов, зачатых от самцов подопытной и контрольной групп.

Таким образом, введение ^{131}I в дозах 37 и 92,5 кБк самцам крыс препубертатного возраста вызывает у половозрелых животных некоторые функциональные сдвиги в репродуктивной системе, выражающиеся в изменении уровня биологически активного ЛГ и Т в крови, а также метаболизма Т в гипоталамусе. В аналогичных исследованиях йод в дозе 9,25 кБк не оказывал влияния на состояние репродуктивной системы самцов крыс.

Последовательность событий, приводящих к таким функциональным нарушениям, можно представить следующим образом. Радиоактивный йод, воздействуя непосредственно на семенники [11], оказывает стимулирующее действие на продукцию Т в них и повышение его содержания в крови подопытных животных. Закономерным следствием этого является снижение секреции ЛГ гипофизом и (поскольку Т является индуктором активности ароматазы C_{19} -стероидов в мозге [12]) повышение активности этого фермента в гипоталамусе. Образовавшийся локально в повышенном количестве эстрадиол также ингибирует секрецию ЛГ гонадотропоцитами у подопытных животных. Снижение секреции ЛГ гипофизом при одновременной стимуляции продукции Т свидетельствует о том, что ^{131}I в изученных дозах не нарушает механизм отрицательной обратной связи в системе гипофиз — гонады у половозрелых самцов крыс.

Таблица 3

Активность ферментов биосинтеза и метаболизма Т в семенниках и гипоталамусе половозрелых самцов крыс после воздействия ^{131}I в препубертатном периоде

Группа животных	СД, мкг андростендиона/1,5 ч		Ароматаза, пмоль/ч		5 α -редуктаза, пмоль/ч	
	в семеннике	на 1 мг белка	на 1 г ткани	на 1 г белка	на 1 г ткани	на 1 г белка
Контроль-1 ^{131}I	228,6±34,3	16,4±5,8	0,87±0,06	50,33±4,80	15,76±1,55	907,5±93,9
9,25 кБк	251,7±5,4	12,4±3,2	1,40±0,33	81,38±31,78	15,11±1,41	894,8±225,8
37 кБк	258,6±26,0	12,7±3,6	1,26±0,16*	77,29±9,12*	20,19±2,48	1281,6±192,9
Контроль-2 ^{131}I	—	—	0,28±0,05	10,23±1,67	28,57±4,01	1083,3±247,4
92,5 кБк	—	—	0,42±0,03*	14,82±1,72*	37,11±1,22	1292,1±53,5

Примечание. Ароматазную активность определяли на основании данных радиометрии хроматографического пятна, соответствующего эстрадиолу; 5 α -редуктазную — как сумму образовавшихся 5 α -дигидротестостерона и 5 α -андростан-3 α , 17 β -диола.

Выводы

1. Инкорпорация ^{131}I в малой дозе (9,25 кБк) самцам крыс в препубертатном периоде не оказывала повреждающего влияния на их репродуктивную систему в половозрелом возрасте.

2. Введение ^{131}I в дозах 37 и 92,5 кБк 30-дневным самцам крыс вызывает у половозрелых животных функциональные сдвиги в репродуктивной системе, выражающиеся в изменении уровня биологически активного ЛГ и Т в крови, а также метаболизма андрогенов в гипоталамусе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Думитру И., Мэйкэнеску-Джорджеску М., Ротару М. и др. // Физиология и патофизиология воспроизводства человека.— Бухарест, 1984.— С. 845.
2. Кузнецов А. С., Булдаков Л. А., Дементьев С. И. // Метаболизм и биологическое действие радионуклидов при оральном поступлении в организм.— М., 1989.— С. 157—163.
3. Москаленко Ю. И. Отдаленные последствия ионизирующих излучений.— М., 1991.
4. Резников О. Г., Демченко В. М., Нищименко О. В. // Физиол. журн.— 1976.— № 5.— С. 616—621.
5. Baraghini C. F., Celani M. F., Zaidi A. A. et al. // J. endocr. Invest.— 1984.— Vol. 7.— Suppl. 3.— P. 23—91.
6. Burton K. // Biochem. J.— 1956.— Vol. 62.— P. 315—322.

7. Casarett G. W. Radiation Histopathology.— Boca Raton, 1980.— Vol. 1.
8. Damme M. P. Van, Robertson D. M., Diczfalussy E. // Acta endocr. (Kbh.).— 1974.— Vol. 77.— P. 655—661.
9. Isaacs I. T. // Prostate.— 1984.— Vol. 5.— P. 545—557.
10. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. // J. biol. Chem.— 1951.— Vol. 193.— P. 265—275.
11. Mian T. A., Glenn H. I., Jannasen M. et al. // Current Applied Radiopharmacology.— Toronto, 1986.— P. 303—308.
12. Roselli C. E., Ellinwood W. E., Resko J. A. // Endocrinology.— 1984.— Vol. 114.— P. 192—200.

Поступила 11.10.93

L. V. Tarasenko, S. V. Varga, V. N. Demchenko, Ye. V. Bolshova, N. D. Nosenko, P. V. Sinityn, L. V. Chaikovskaya, A. G. Reznikov — EFFECT OF ^{131}I INCORPORATION ON MALE RAT REPRODUCTIVE SYSTEM AND THE DOSE-DEPENDENT EFFECT

Summary. Radioactive ^{131}I was injected in single doses 9.25, 37, and 92.5 kBq to prepubertal (30-day-old) male rats. Iodine incorporation in doses 37 and 92.5 kBq resulted in some functional changes in the reproductive system of mature rats: blood testosterone level increased, its hypothalamic aromatization intensified, and biologically active LH level in the blood dropped. Incorporation of 9.25 kBq of ^{131}I had no effect on male reproductive system. A possibility of direct injury to rat testicles by ^{131}I incorporation is suggested.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1994

УДК 612.411.014.2.017.1|06:577.175.64/.65|.08

С. В. Ширшев, Ю. И. Шилов, Н. Н. Кеворков

ВЛИЯНИЕ ЖЕНСКИХ ПОЛОВЫХ СТЕРОИДОВ НА СПОСОБНОСТЬ СПЛЕНОЦИТОВ ФОРМИРОВАТЬ АДОПТИВНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ. РОЛЬ ПРОСТАГЛАНДИНА $\text{F}_{2\alpha}$ В МЕХАНИЗМАХ ГОРМОНАЛЬНОЙ ИММУНОРЕГУЛЯЦИИ

Лаборатория экологической иммунологии (дир.— член-корр. РАН В. А. Черешнев) Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь

Механизмы специфической толерантности, развивающейся к антигенам плаценты и плода при физиологической беременности, до сих пор не выяснены. Между тем концепция нейроэндокринного контроля иммунной системы получает новые экспериментальные и клинические подтверждения [3, 11]. Эндокринный статус беременной женщины существенно отличается от такового у небеременной, уровень гормонов репродукции и их соотношение значительно меняются в разные trimestры, что, по-видимому, важно для процессов роста и дифференцировки фетальных клеток.

В период беременности половые стероидные гормоны являются ее мощными протекторами не только благодаря контролю за процессами роста репродуктивных органов и тканей, но и вследствие непосредственного влияния на иммунокомпетентные клетки матери [4—6, 13]. Этому способствует высокий уровень половых стероидных гормонов во время беременности, превышающий на несколько порядков максимальные концентрации у фертильных небеременных женщин [9]. Известно, что эстрадиол (E_2) и прогестерон (П) обладают разнообразными иммуномодулирующими эффектами, и это разнообразие зависит от их концентрации, степени активности лимфоцитов, а так-

же длительности воздействия гормонов на иммунокомпетентные клетки [4].

Целью настоящей работы было изучение иммуномодулирующих эффектов E_2 и П в концентрациях, характерных для беременности, а также влияния этих гормонов на продукцию простагландина $\text{F}_{2\alpha}$ ($\text{ПГF}_{2\alpha}$) иммунокомпетентными клетками на этапе антигеннезависимой дифференцировки.

Материалы и методы

Работа выполнена на мышах-самках линии СВА массой 20—22 г, полученных из питомника лабораторных животных РАМН «Рапполово». Асептически выделенные интактные клетки селезенки культивировали в 4 мл питательной среды 199 ($5 \cdot 10^6$ клеток в 1 мл) при 37°C в течение 1 ч. В опытные культуры клеток вносили E_2 (1 или 10 нг/мл) или П (20 или 100 нг/мл) фирмы «Serva». Дозы половых стероидов соответствуют среднему уровню этих гормонов в I и III trimestрах беременности у женщин [9]. В контрольные флаконы вносили растворитель гормонов — этанол (0,25 % раствор на среде 199). Параллельно ставили контроль без растворителя гормонов. После часовой инкубации клетки отмывали холодной средой 199 и концентрировали таким образом, чтобы в 0,5 мл суспензии содержалось $2 \cdot 10^7$ спленоцитов. Затем $2 \cdot 10^7$ клеток совместно с $2 \cdot 10^8$ эритроцитами барана в общем объеме 0,7 мл переносили внутривенно сингенным, летально облученным (219,3 мКл/кг) реципиентам. На 4-й день от сингенного переноса мышей-реципиентов забивали и в селезенке определяли количество антителообразующих клеток (АОК) ме-